

องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย
จากขมิ้นสามชนิดในประเทศไทย
CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY
OF ESSENTIAL OILS FROM THREE *CURCUMA* SPECIES IN THAILAND

มนตรา ศรีษะแย้ม^{1*} จริญญา จูด้วง¹ อนงค์ ศรีโสภา¹ พิมรินทร์ ศิริรินทร์¹ และสรिता สังข์ทอง²
Montra Srisayam^{1*}, Jariya Jooduang¹, Anong Srisopa¹, Phimmarin Keerin¹,
and Sarita Sangthong²

¹Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University

²School of Cosmetic Sciences, Mae Fah Luang University

*corresponding author e-mail: srisayam_ssy@psru.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยในขมิ้นจากประเทศไทยจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) และขมิ้นดำ (*Curcuma aeruginosa*) สกัดน้ำมันหอมระเหยจากส่วนเหง้าด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ *Staphylococcus epidermidis*) ด้วยวิธี Agar well diffusion, Broth dilution และ Agar dilution และหาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี Gas chromatography–mass spectroscopy (GC-MS) ผลการทดลองด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้น 3 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ทั้งหมด 7 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นต้นไป น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อยสามารถยับยั้ง *P. aeruginosa*, MRSA และ *S. epidermidis* ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันและขมิ้นดำ มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration, MIC) เท่ากับ 62.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าทำลายแบคทีเรีย (Minimum bactericidal concentration, MBC) พบว่าขมิ้นทั้ง 3 ชนิดให้ผลในการทำลายแบคทีเรียไม่แตกต่างกัน จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบการกระจายตัวของสารในขมิ้นอ้อย 25 ชนิด ในขมิ้นชัน 16 ชนิด และในขมิ้นดำ 14 ชนิด โดยพบ β -turmerone (ร้อยละ 14.32), α -turmerone (ร้อยละ 35.41) และ camphor (ร้อยละ 9.04) เป็นองค์ประกอบหลักในขมิ้นอ้อย ขมิ้นชันและขมิ้นดำ ตามลำดับ ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นมีสารในกลุ่ม terpenes ในปริมาณสูงและมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย

คำสำคัญ: ขมิ้น ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย น้ำมันหอมระเหย

Abstract

The aim of this research was to analyze the chemical composition and to evaluate antibacterial activity of essential oils from three turmeric types grown in Thailand. Turmeric essential oils from rhizomes of *Curcuma zedoaria*, *C. longa* and *C. aeruginosa* were obtained by steam distillation. Agar well diffusion method, Broth dilution method and Agar dilution method were used to test antibacterial activities against *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *S. aureus* and *S. epidermidis*. The chemical composition of essential oil was analyzed by Gas chromatography–mass spectroscopy (GC-MS) technique. Agar well diffusion test showed that the growth of seven bacteria was inhibited by at least 1 mg/ml of three types turmeric essential oils. The minimum inhibitory concentration (MIC) test showed that *C. zedoaria* essential oil provided higher activity against *P. aeruginosa*, MRSA and *S. epidermidis* than *C. longa* and *C. aeruginosa* with MIC value of 62.50 µg/ml. The minimum bactericidal concentration (MBC) of the essential oils obtained from three types of turmeric samples were not different. GC-MS analysis showed the presence of 25, 16 and 14 compounds found in the essential oils obtained from *C. zedoaria*, *C. longa* and *C. aeruginosa*, respectively. β-Turmerone (14.32 %), ar-turmerone (35.41 %) and camphor (9.04 %) were the major components found in the essential oils distilled from *C. zedoaria*, *C. longa* and *C. aeruginosa*, respectively. Therefore, the turmeric essential oils mainly contained a large number of terpenes and significantly exhibited antibacterial activity.

Keywords: turmeric, antibacterial activity, essential oil

บทนำ

ขมิ้น (turmeric) เป็นพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ที่ใช้เป็นยาพื้นบ้านสืบทอดกันมาตั้งแต่สมัยโบราณ สำหรับบรรเทาอาการปวดท้อง ท้องอืด จุก เสียดแน่น ขับน้ำดี ช่วยสมานแผล กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและแก้ผดผื่นคัน (Rangsipanuratn et al., 2016) จากรายงานที่ผ่านมาได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางเคมีและชีวภาพเพื่อยืนยันฤทธิ์เกี่ยวกับการรักษาหรือบรรเทาอาการจากโรค ตัวอย่างเช่น ฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรค ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ ปัจจุบันมีการนำขมิ้นมาประยุกต์ใช้หลายรูปแบบ เช่น ผลิตภัณฑ์ขัดผิว บำรุงผิว และใช้เป็นยาสมุนไพรในรูปแบบผงหรือแคปซูล

ชนิดของขมิ้นที่มีการปลูกในประเทศไทย ได้แก่ ขมิ้นชัน (*C. longa*) ขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria*) และขมิ้นดำ (*C. aeruginosa*) ขมิ้นชันเป็นที่นิยมแพร่หลายในการนำมาใช้ด้านเภสัชกรรมและเวชสำอาง แต่ขมิ้นอ้อยและขมิ้นดำยังไม่เป็นที่รู้จักสำหรับคนส่วนใหญ่ สอดคล้องกับงานวิจัยที่ยังศึกษาไม่ครอบคลุมถึงขมิ้นอ้อยและขมิ้นดำที่ปลูกในประเทศไทยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพและสารที่เป็นองค์ประกอบในขมิ้นแต่ละชนิด เช่น การศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของขมิ้นที่ปลูก

ในประเทศไทย ซึ่งพบการศึกษาเฉพาะไขมันชั้นเพียงชนิดเดียวจึงเป็นเหตุผลที่ทำให้คณะผู้วิจัยสนใจศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและผิวหนังของไขมันชั้นเปรียบเทียบกับไขมันอ้อยและไขมันดำ ซึ่งพิจารณาจากการใช้ประโยชน์ที่สืบทอดกันมาตั้งแต่อดีต อย่างไรก็ตามในต่างประเทศได้มีการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในไขมันอ้อยและไขมันดำ จากรายงานก่อนหน้านี้นี้พบว่าเหง้าของไขมันอ้อยจากประเทศบังคลาเทศที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ (Islam et al., 2010) น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้าของไขมันอ้อยที่นำมาจากประเทศไต้หวันยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *S. typhimurium* (Lai et al., 2004) น้ำมันหอมระเหยจากไขมันดำที่นำมาจากประเทศมาเลเซียมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *Cryptococcus neoformans* และ *Candida albicans* (Kamazeri et al., 2012)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากไขมันแต่ละชนิดที่ผ่านมา พบว่า น้ำมันหอมระเหยไขมันดำมี curcumanolides A และ B (ร้อยละ 11.4) เป็นองค์ประกอบหลัก (Zwaving & Bos, 2006) น้ำมันหอมระเหยไขมันอ้อยพบ curzerenone (ร้อยละ 31.6) เป็นองค์ประกอบหลัก (Singh et al., 2013) น้ำมันหอมระเหยไขมันชั้นในทางตอนเหนือของประเทศไนจีเรียพบว่ามี β -bisabolene (ร้อยละ 13.9) เป็นองค์ประกอบหลัก (Usman et al., 2009) ขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากไขมันชั้นในประเทศไต้หวันพบ epicurzerenone (ร้อยละ 24.08) เป็นองค์ประกอบหลัก (Mau et al., 2003) นอกจากนี้มีรายงานว่าความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของไขมันเกิดจากองค์ประกอบทางเคมีในไขมัน เช่น สารในกลุ่ม terpenes, saponin, alkaloid และ flavonoid พบว่าสาร eucalyptol, isoborneol, germacroncurdione, β -elemene, ar-turmerone, β -trans-farnesin, turmerone และ curlone เป็นสารออกฤทธิ์ที่ยับยั้งแบคทีเรีย (Negi et al., 1999; Burt, 2004; Zhu et al., 2013; Jose & Thomas, 2014; Prakosa et al., 2016)

แม้มีข้อมูลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของไขมันแต่ละชนิดดังที่กล่าวมา แต่ความแตกต่างของสภาพภูมิอากาศ ดิน และสิ่งแวดล้อมในแต่ละประเทศมีความแตกต่างกันอาจส่งผลให้ฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบของสารแตกต่างกัน นอกจากนี้ชนิดแบคทีเรียทดสอบที่ใช้ในแต่ละการศึกษามีความแตกต่างกัน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากไขมันที่ปลูกในประเทศไทย 3 ชนิด คือ ไขมันชั้น ไขมันอ้อยและไขมันดำ รวมทั้งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของสารที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยจากไขมันด้วยเทคนิค GC-MS เพื่อเป็นฐานข้อมูลและยืนยันองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของไขมันอ้อย ไขมันชั้น และไขมันดำ นอกจากนี้ยังนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากไขมันอ้อยและไขมันดำเพิ่มมากขึ้น และเป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อใช้ในการแยกสารบริสุทธิ์ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ *Bacillus cereus* DMST5040, *Escherichia coli* DMST 4212, *Pseudomonas aeruginosa* DMST15501, *Salmonella typhimurium* DMST 562, *Staphylococcus aureus* DMST8013, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20651 และ *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505

ตัวอย่างไขมัน

ไขมันที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ ไขมันอ้อย ไขมันชัน และไขมันดำ ตัวอย่างไขมันนำมาจากร้านขายสมุนไพรในจังหวัดพิษณุโลก การเตรียมน้ำมันหอมระเหยเตรียมโดยนำเหง้าไขมันสดมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม ทิ้งเป็นชิ้นขนาดเล็กประมาณ 0.5×0.5 เซนติเมตร และนำไปสกัดน้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

การเตรียมเชื้อตั้งต้นในการทดสอบ

นำเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าเพื่อให้อากาศที่ความเร็ว 240 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง และปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับความขุ่นมาตรฐานแมกซ์ฟาร์แลนด์ (McFarland) เบอร์ 0.5 (จำนวนเซลล์ 10^8 cfu/ml)

ทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Agar well diffusion

นำเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้มาเกลี่ย (swab) ให้ทั่วบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ด้วยไม้พันสำลี ที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นใช้อุปกรณ์เจาะจุกคอร์ก (cork borer) ที่ปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เจาะหลุมบนอาหารที่มีเชื้อทดสอบและใส่สารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากไขมันอ้อย ไขมันชัน และไขมันดำที่มีความเข้มข้น 1 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยใส่ยาแอมพิซิลลิน (ampicillin) ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมผลบวก (positive control) และใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นตัวควบคุมผลลบ (negative control) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส ทำการทดลองแต่ละตัวอย่าง 3 ซ้ำ (Srisayam & Chantawannakul, 2010)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution

เพาะเลี้ยงแบคทีเรียทดสอบและใช้เชื้อที่มีจำนวนเซลล์เท่ากับ 10^8 cfu/ml ทำการเจือจางน้ำมันหอมระเหยจากไขมันในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB แบบเจือจางสองเท่าลำดับส่วนและทำการเจือจางจนถึงหลอดที่ 9 ต่อมาดูดเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ลงในหลอดทุกหลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หาค่า MIC จากหลอดที่เริ่มสังเกตเห็นว่าอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดไม่ขุ่น เมื่อเทียบกับหลอดที่ 10 ที่มีเฉพาะแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบบันทึกผล ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (ดัดแปลงจาก Pojanaukij & Kajorncheappunngam, 2010)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าทำลายแบคทีเรียด้วยวิธี Agar dilution

นำปิเปตดูดของเหลวในหลอดที่ไม่มีความขุ่นที่ได้จากการหาค่า MIC ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่และทำการเกลี่ย (spread plate) ลงบนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกค่า MBC จากจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่พบการเจริญของโคโลนีแบคทีเรีย ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (ดัดแปลงจาก Pojanaukij & Kajorncheappunngam, 2010)

การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารในไขมันแต่ละชนิดด้วยวิธี GC-MS

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากไขมันอ้อย ไขมันชันและไขมันดำ ด้วยเครื่อง GC-MS (Hewlett-Packard 6890) โดยอุปกรณ์และสภาวะที่ใช้ประกอบด้วย อุณหภูมิของส่วนฉีดสาร 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นจาก 40 องศาเซลเซียส

(คงไว้ 5 นาที) และเพิ่มขึ้นในอัตรา 4 องศาเซลเซียส/นาที จนเป็น 280 องศาเซลเซียส (คงไว้ 10 นาที) อุณหภูมิของเครื่องตรวจวัดสัญญาณ 280 องศาเซลเซียส คอลัมน์เป็นชนิด HP-5MS (30 เมตร, 0.25 ไมโครเมตร, 0.25 มิลลิเมตร) ก๊าซพาเป็นก๊าซฮีเลียม ปริมาตรที่ฉีด 1 ไมโครลิตร และ split ratio 30:1 อุณหภูมิของส่วนไอออไนเซชันคือ 230 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของส่วน mass analyzer 150 และ 280 องศาเซลเซียส ช่วงมวลในการวิเคราะห์ 30-650 amu ดัดแปลงจาก Mau et al. (2003)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ที่ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Agar well diffusion

ผลทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Agar well diffusion ของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นทั้ง 3 ชนิด พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ทุกชนิด แต่ผลที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกันมากนักในขมิ้นแต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 1 (Table 1) อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบการยับยั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดในการยับยั้งเชื้อ MRSA โดยพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อยและขมิ้นดำสามารถยับยั้งเชื้อ MRSA ได้ดีกว่าขมิ้นชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$ และ 0.005 ตามลำดับ) ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิเมตร พบค่าเฉลี่ยของโซนยับยั้งจากการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อยเท่ากับ 13.00 ± 1.00 มิลลิเมตร และการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นดำพบค่าเฉลี่ยของโซนยับยั้งเท่ากับ 12.33 ± 0.58 มิลลิเมตร ขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันพบค่าเฉลี่ยของโซนยับยั้งเท่ากับ 10.00 ± 0.00 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 1 (Table 1)

Table 1 Antibacterial activity of three turmeric essential oils

Bacteria	inhibition zone (mean \pm SD) (mm)						
	<i>C. zedoaria</i>		<i>C. longa</i>		<i>C. aeruginosa</i>		ampicillin
	1 mg/ml	20 mg/ml	1 mg/ml	20 mg/ml	1 mg/ml	20 mg/ml	
<i>B. cereus</i>	13.67 \pm 1.53 ^a	13.33 \pm 1.15 ^a	13.00 \pm 1.00 ^a	11.67 \pm 0.58 ^a	11.33 \pm 0.58 ^a	12.67 \pm 0.58 ^a	18.67 \pm 2.50 ^b
<i>E. coli</i>	9.00 \pm 0.00 ^a	9.33 \pm 0.58 ^a	9.00 \pm 0.00 ^a	9.67 \pm 1.15 ^a	9.67 \pm 1.15 ^a	10.67 \pm 0.58 ^a	21.00 \pm 1.13 ^b
<i>P. aeruginosa</i>	10.33 \pm 0.58 ^a	10.00 \pm 0.00 ^a	10.33 \pm 0.58 ^a	9.33 \pm 0.58 ^a	10.33 \pm 0.58 ^a	10.00 \pm 0.00 ^a	9.42 \pm 0.58 ^a
<i>S. typhimurium</i>	9.00 \pm 0.00 ^a	9.33 \pm 0.58 ^a	8.00 \pm 0.00 ^a	10.00 \pm 1.00 ^a	8.33 \pm 0.58 ^a	10.00 \pm 0.00 ^a	25.67 \pm 3.53 ^b
<i>S. aureus</i>	10.67 \pm 0.58 ^a	12.67 \pm 1.16 ^a	10.67 \pm 1.53 ^a	11.33 \pm 1.16 ^a	10.33 \pm 0.58 ^a	12.00 \pm 1.73 ^a	36.92 \pm 1.17 ^b
MRSA	10.67 \pm 0.58 ^a	13.00 \pm 1.00 ^b	9.67 \pm 1.53 ^a	10.00 \pm 0.00 ^a	9.00 \pm 1.00 ^a	12.33 \pm 0.58 ^b	9.00 \pm 0.00 ^a
<i>S. epidermidis</i>	10.67 \pm 0.58 ^a	10.33 \pm 0.58 ^a	10.00 \pm 1.00 ^a	10.33 \pm 0.58 ^a	10.33 \pm 1.16 ^a	11.33 \pm 0.58 ^a	18.92 \pm 1.78 ^b

Remark Small letters (^{a,b}) describe statistical difference ($p < 0.05$) of each oils at the same concentration against each bacteria

ผลของความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าทำลายแบคทีเรีย (MBC) ของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อย ขมิ้นชัน และขมิ้นดำ

เนื่องจากการทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Agar well diffusion ไม่สามารถบอกได้ว่าตัวอย่างขมิ้นเริ่มมีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นใด ดังนั้นในขั้นตอนนี้จะเป็นการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อย ขมิ้นชัน และขมิ้นดำ ผลการทดสอบพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* และ

S. typhimurium มีค่า MIC เท่ากับ 125.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร น้ำมันอ้อยยั๊ยั้ง *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดมีค่า MIC เท่ากับ 62.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากน้ำมันอ้อยยั๊ยั้ง *P. aeruginosa*, MRSA และ *S. epidermidis* ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันและขมิ้นดำ เมื่อพิจารณาจากค่า MBC พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นทั้ง 3 ชนิด ให้ผลในการทำลายแบคทีเรียไม่แตกต่างกัน โดย *B. cereus* มีความต้านทานต่อน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นมากที่สุด มีค่า MBC เท่ากับ 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังตารางที่ 2 (Table 2)

Table 2 Minimum inhibition concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of *C. zedoaria*, *C. longa* and *C. aeruginosa*

Bacteria	Minimum inhibition concentration: MIC (µg/ml)				Minimum bactericidal concentration: MBC (µg/ml)			
	<i>C. zedoaria</i>	<i>C. longa</i>	<i>C. aeruginosa</i>	ampicillin	<i>C. zedoaria</i>	<i>C. longa</i>	<i>C. aeruginosa</i>	ampicillin
<i>B. cereus</i>	125.00	125.00	125.00	12.50	1000.00	1000.00	1000.00	100.00
<i>E. coli</i>	62.50	62.50	62.50	6.25	250.00	250.00	250.00	25.00
<i>P. aeruginosa</i>	62.50	125.00	125.00	12.50	500.00	500.00	500.00	50.00
<i>S. typhimurium</i>	125.00	125.00	125.00	12.50	500.00	500.00	500.00	50.00
<i>S. aureus</i>	62.50	62.50	62.50	6.25	500.00	500.00	500.00	50.00
MRSA	62.50	125.00	125.00	25.00	250.00	250.00	250.00	50.00
<i>S. epidermidis</i>	62.50	125.00	125.00	25.00	250.00	250.00	250.00	50.00

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นด้วยเทคนิค GC-MS
จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นด้วยเครื่อง GC-MS แสดงดังตารางที่ 3 (Table 3)

Table 3 Chemical constituents of turmeric rhizomes essential oil.

No.	RT (min)	Components	Relative peak area (%)		
			<i>C. zedoaria</i>	<i>C. longa</i>	<i>C. aeruginosa</i>
1	10.53	Camphene	0.03	-	0.96
2	11.35	2-β-Pinene	0.08	-	0.49
3	12.16	l-Phellandrene	-	1.23	-
4	12.99	1,8-Cineole	8.45	3.82	2.88
5	14.29	α-Terpinolene	0.16	2.56	0.02
6	15.93	Borneol	0.08	-	0.84
7	16.04	Isoborneol	-	0.03	2.43
8	15.64	Camphor	0.37	0.20	9.04
9	16.71	α-Terpineol	0.77	0.28	0.35
10	21.56	γ-Elemene	-	-	0.69
11	21.61	α-Bergamotene	1.10	-	-
12	21.83	(+)-Epi-β-Santalene	0.77	-	-
13	21.93	trans-β-Farnesene	1.50	0.34	-

Table 3 (cont.)

No.	RT (min)	Components	Relative peak area (%)		
			<i>C. zedoaria</i>	<i>C. longa</i>	<i>C. aeruginosa</i>
14	22.06	β -Santalene	0.21	-	0.60
15	22.47	Germacrene D	-	-	0.85
16	20.77	β -Elemene	0.15	0.03	1.75
17	22.65	Zingiberene	0.22	-	-
18	23.29	β -Ocimene-X	9.24	-	-
19	21.35	trans-Caryophyllene	0.21	0.81	0.30
20	23.96	Germacrene B	-	-	7.46
21	23.79	Teresantalol	0.73	-	-
22	24.46	(+)- β -Atlantone	2.72	-	-
23	22.89	β -Bisabolene	3.51	0.86	-
24	25.01	Patchoulene	1.16	-	-
25	25.09	α -Cedren I	1.04	-	-
26	25.81	β -Turmerone	14.32	0.70	-
27	26.26	α -Turmerone	3.63	11.70	-
28	24.71	Zingiberenol	1.04	0.99	-
29	27.32	(+)- α -Atlantone	1.25	-	-
30	25.97	(+)-ar-Turmerone	-	35.41	-
31	26.08	Italicene	-	0.80	-
32	29.78	Patchouli alcohol	1.13	1.11	-

พบสารจำนวน 32 ชนิด ที่มีปริมาณเล็กน้อยแตกต่างกันในขมิ้นแต่ละชนิด โดยพบในน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อย 25 ชนิด พบในน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชัน 16 ชนิด และพบในน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นดำ 14 ชนิด สารประกอบหลักที่พบในขมิ้นอ้อย ได้แก่ β -turmerone, β -oximene x และ 1,8 cineole โดยมีร้อยละ relative peak area เท่ากับร้อยละ 14.32, 9.24 และ 8.45 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันพบสาร ar-turmerone, α -turmerone และ 1,8 cineole โดยมีร้อยละ relative peak area เท่ากับ ร้อยละ 35.41, 11.70 และ 3.82 ตามลำดับ สำหรับขมิ้นดำพบสาร camphor, germacrene B และ 1,8 cineole โดยมีร้อยละ relative peak area เท่ากับ ร้อยละ 9.04, 7.46 และ 2.88 ตามลำดับ

อภิปรายผล

การศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียด้วยน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นทั้ง 3 ชนิด ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ยับยั้งแบคทีเรียไม่แตกต่างกันในหลายชุดการทดลอง เมื่อพิจารณาจากขนาดของโซนยับยั้งและบางชุดการทดลองใช้น้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าขนาดของโซนยับยั้งลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับผลการยับยั้งแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

เช่น ในการทดสอบการยับยั้ง *B. cereus* และ *P. aeruginosa* ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชัน อาจเกิดจากข้อจำกัดของวิธีการทดสอบที่อาศัยหลักการแพร่ของสารในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยใช้อาหารแข็งเป็นตัวกลางในการทดสอบ ทำให้น้ำมันหอมระเหยไม่สามารถสัมผัสกับแบคทีเรียได้โดยตรง ส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนจากการทดลองได้ จึงทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของการยับยั้งระหว่าง 2 ความเข้มข้นที่ใช้ แต่เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า การยับยั้งแบคทีเรียไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เพื่อยืนยันความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียและบ่งบอกความแตกต่างของฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของขมิ้นทั้ง 3 ชนิด จึงทำการทดสอบด้วยวิธี Broth dilution และเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียด้วยค่า MIC พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อย (62.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีฤทธิ์ยับยั้ง *P. aeruginosa*, MRSA และ *S. epidermidis* ได้สูงกว่า น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชัน (125.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และขมิ้นดำ (125.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ส่วนฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียซึ่งแสดงด้วยค่า MBC พบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียทดสอบแต่ละชนิดไม่แตกต่างกัน และพบว่า *B. cereus* มีความต้านทานต่อน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นมากที่สุด มีค่า MBC เท่ากับ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อาจเป็นเพราะ *B. cereus* มีความสามารถสร้างสปอร์จึงทนต่อการถูกทำลายด้วยน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นได้สูงกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นที่นำมาทดสอบ จากการทดสอบทั้ง 3 วิธี แสดงให้เห็นว่า น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นทั้ง 3 ชนิด มีความสามารถในการยับยั้งและฆ่าแบคทีเรีย โดยฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของขมิ้นทั้ง 3 ชนิด มีความสอดคล้องกับฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบบางชนิด เช่น *E. coli* และ *S. typhimurium* ส่วนเชื้อบางชนิด เช่น *P. aeruginosa*, MRSA และ *S. epidermidis* ถูกยับยั้งด้วยน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นแต่ละชนิดมีค่า MIC ที่แตกต่างกัน แต่มีค่า MBC เท่ากัน (Table 2) ซึ่งขึ้นอยู่กับความต้านทานของเชื้อแต่ละชนิด ผลการยับยั้งแบคทีเรียที่เกิดขึ้นเป็นไปได้ว่าเกิดจากองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นที่มีความแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ซึ่งสารแต่ละชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งหรือฆ่าแบคทีเรียได้แตกต่างกัน งานวิจัยก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบหลักในขมิ้น เช่น β -turmerone, ar-turmerone และ camphor มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย โดย Negi et al. (1999) รายงานว่า turmerone และ β -turmerone (curtione) จากขมิ้นมีฤทธิ์ยับยั้ง *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ขณะที่สาร ar-turmerone นอกจากมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ยังสามารถยับยั้งเชื้อรา และยับยั้งการเกิดมะเร็ง (Baik et al., 1993; Jankasem et al., 2013) ar-turmerone พบปริมาณสูงในขมิ้นชันแต่มีฤทธิ์ต่ำในการยับยั้ง *E. coli* (Lee, 2006) camphor พบปริมาณมากในน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นดำ มีฤทธิ์ต้านไวรัส ต้านอาการไอ และต้านมะเร็ง (Chen et al., 2013) สามารถยับยั้ง *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. coli* และ *S. typhimurium* แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่า 1,8-cineole ซึ่งพบมากในน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อย (Soković et al., 2007) และเมื่อพิจารณาจากผล GC-MS พบว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อยคือ β -turmerone, β -oximene x และ 1,8 cineole องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันคือ ar-turmerone, α -turmerone และ 1,8 cineole และองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นดำคือ camphor, germacrene B และ 1,8 cineole จากองค์ประกอบทางเคมีที่กล่าวมาจึงอาจเป็นเหตุผลที่ทำให้ น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อยยับยั้ง *P. aeruginosa*, MRSA และ *S. epidermidis* ได้ดีกว่า น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันและขมิ้นดำ นอกจากนี้พบว่าสารในกลุ่ม terpenes, saponin, alkaloid และ flavonoid มีฤทธิ์ในการต่อต้านแบคทีเรีย จากกลไกในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก (Burt, 2004; Jose & Thomas, 2014) และจาก

ความแตกต่างกันของผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก ส่งผลให้สารมีผลต่อแกรมบวกมากกว่าแกรมลบ เนื่องจากสารออกฤทธิ์ทำลายผนังเซลล์ส่วนที่เป็น peptidoglycan (Prakosa et al., 2016; Berniyanti & Mahmiyah, 2015) ผลการยับยั้งแบคทีเรียที่ได้จากงานวิจัยนี้สอดคล้องกับ Lai et al. (2004) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อยในประเทศไต้หวันสามารถยับยั้ง *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium* ได้ แต่ยับยั้ง *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ต่ำกว่าเชื้อชนิดอื่นที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยขมิ้นอ้อยมากกว่าค่า MIC (62.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ที่ได้จากขมิ้นอ้อยของไทย ขณะที่สารสกัดจากขมิ้นอ้อยในประเทศอินเดีย ไม่สามารถยับยั้ง *S. aureus* และ *E. coli* ได้ (Wilson et al., 2005) Negi et al. (1999) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งเชื้อ *B. coagulans*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pojanaukij & Kajorncheappunngam (2010) รายงานว่าสารสกัดจากขมิ้นชันสามารถยับยั้ง *P. acnes* และ *S. aureus* ได้ การศึกษาของ Akarchariya et al. (2017) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นดำยับยั้งเชื้อ *B. cereus* โดยให้ค่า MIC เท่ากับ 125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยขมิ้นดำจากประเทศมาเลเซียผ่านการทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion สามารถยับยั้ง *B. cereus*, *S. aureus* และ *P. aeruginosa* แต่ไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* (Kamazeri et al., 2012) ขณะที่ขมิ้นดำของไทยสามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ อย่างไรก็ตามขั้นตอนการสกัดน้ำมันหอมระเหย รวมทั้งวิธีการทดสอบและคุณสมบัติของเชื้อทดสอบจากแหล่งที่มาต่างกัน อาจทำให้ความสามารถในการยับยั้งแตกต่างกันได้ จากการวิเคราะห์การกระจายตัวขององค์ประกอบทางเคมีในขมิ้นด้วยเทคนิค GC-MS พบว่ามีความแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ เช่น น้ำมันหอมระเหยของขมิ้นชันในทางตอนเหนือของประเทศไนจีเรียพบว่ามี β -bisabolene (ร้อยละ 13.9) เป็นองค์ประกอบหลัก (Usman et al., 2009) ขณะที่ในประเทศไต้หวันพบ epicurzerenone (ร้อยละ 24.08) เป็นองค์ประกอบหลัก (Mau et al., 2003) แตกต่างกับ Singh et al. (2002) และ Singh et al. (2013) ที่ศึกษาขมิ้นในประเทศอินเดียแต่พื้นที่ต่างกัน พบองค์ประกอบหลักทางเคมีของขมิ้นแตกต่างกัน โดยพบ cineole (ร้อยละ 18.5) และ curzerenone (ร้อยละ 31.6) เป็นองค์ประกอบหลักตามลำดับ ขณะที่ประเทศไทยและประเทศอื่นรายงานว่ามีน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันมีองค์ประกอบหลักเป็น ar-turmerone (Nigam & Ahmed, 1991; Hu et al., 1997; Sharma et al., 1997; Martins et al., 2001) การศึกษาขมิ้นดำในประเทศมาเลเซียพบองค์ประกอบหลักเป็น cycloisolongifolene และ 8,9-dehydro-9-formyl (ร้อยละ 35.29) (Kamazeri et al., 2012) ซึ่งแตกต่างจากขมิ้นของไทยในการศึกษาใหม่ที่พบ camphor (ร้อยละ 9.04) เป็นองค์ประกอบหลัก การศึกษาขมิ้นอ้อยในประเทศอินเดียพบสารองค์ประกอบหลักเป็น curzerenone (ร้อยละ 31.6) (Singh et al., 2013) ในประเทศไต้หวันพบสาร epicurzerenone เป็นองค์ประกอบหลัก ขณะที่การศึกษานี้พบ β -turmerone เป็นองค์ประกอบหลัก (ร้อยละ 14.32) ซึ่งความแปรผันขององค์ประกอบทางเคมีดังกล่าวอาจเกิดจากความแตกต่างของสภาพภูมิอากาศ ดิน และสิ่งแวดล้อมในแต่ละพื้นที่ส่งผลให้องค์ประกอบของสารแตกต่างกัน

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นที่ปลูกในประเทศไทย 3 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อยและขมิ้นดำ สรุปได้ว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นอ้อย (62.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สามารถยับยั้ง *P. aeruginosa*, MRSA และ *S. epidermidis* ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันและขมิ้นดำ แต่มีความสามารถในการฆ่าแบคทีเรียได้ไม่แตกต่างกัน และน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นที่ปลูกในประเทศไทย เช่น ขมิ้นอ้อยและขมิ้นดำ มีแนวโน้มในการยับยั้ง *E. coli* ได้ดีกว่าตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่มาจากประเทศอื่น เช่น มาเลเซียและไต้หวัน จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบสารในกลุ่ม terpenes เป็นองค์ประกอบหลักมีการกระจายตัวของสารในขมิ้นอ้อย 25 ชนิด ในขมิ้นชัน 16 ชนิด และในขมิ้นดำ 14 ชนิด โดยพบ β -turmerone (ร้อยละ 14.32), ar-turmerone (ร้อยละ 35.41) และ camphor (ร้อยละ 9.04) เป็นองค์ประกอบหลักในขมิ้นอ้อย ขมิ้นชันและขมิ้นดำ ตามลำดับ โดยสารองค์ประกอบหลักในขมิ้นแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ ดังนั้นข้อมูลทางเคมีและชีวภาพที่ได้จากงานวิจัยนี้จึงเป็นประโยชน์สำหรับผู้บริโภคใช้ประโยชน์จากขมิ้นโดยตรง เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อใช้ในการแยกสารบริสุทธิ์และนำไปสู่การนำทรัพยากรภายในประเทศมาใช้ได้อย่างคุ้มค่า

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สาขาวิชาเคมีและสาขาวิชาจุลชีววิทยาที่อำนวยความสะดวกในการทำวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณสำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ในการเอื้อเฟื้อสถานที่ทำวิจัยในส่วนของงานวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

เอกสารอ้างอิง

- Akarchariya N, Sirilun S, Julsrigival J. et al. Chemical profiling and antimicrobial activity of essential oil from *Curcuma aeruginosa* Roxb., *Curcuma glans* K. Larsen & J. Mood and *Curcuma cf. xanthorrhiza* Roxb. collected in Thailand, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2017; 7(10): 881-885.
- Baik KU, Jung SH, Ahn BZ. Recognition of pharmacophore of ar-turmerone for its anticancer activity, *Archives of Pharmacol Research*. 1993; 16: 254-256.
- Berniyanti T, Mahmyah E. Microbiological studies on the production of antimicrobial agent by saponin *Aloe vera* L. against *Streptococcus sanguinis*, *Research Journal of Microbiology*. 2015; 10(8): 385-392.
- Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review, *International Journal of Food Microbiology*. 2004; 94: 223-253.
- Chen W, Vermaak I, Viljoen A. Camphor a fumigant during the black death and a coveted fragrant wood in ancient egypt and babylon a review. *Molecules*. 2013; 18: 5434-5454.
- Hu YS, Du QY, Tang QH. Study of chemical constituents of volatile oil from *Curcuma longa* by GC-MS. *Zhongguo Yaoxue Zazhi*. 1997; 32: 35-36.
- Islam MR, Ahamed R, Rahman Md. O. In vitro antimicrobial activities of four medicinally important plants in Bangladesh, *Journal of Scientific Research*. 39(2); 2010: 199-206.

- Jankasem M, Wuthi-udomlert M, Gritsanapan W. Antidermatophytic properties of ar-turmerone, turmeric oil, and *Curcuma longa* preparations. *ISRN Dermatol*; 2013: 1-3.
- Jose S, Thomas TD. Comparative phytochemical and antibacterial studies of two indigenous medicinal plants *Curcuma caesia* Roxb. And *Curcuma aeruginosa* Roxb. *International Journal of Green Pharmacy*. 2014; 8: 65-71.
- Kamazeri TS, Samah OA, Taher M. et al. Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012; 5(3): 202-209.
- Lai EY, Chyau CC, Mau JL. et al. Antimicrobial activity and cytotoxicity of the essential oil of *Curcuma zedoaria*. *Journal of Chinese Medicine*. 2004; 32(2): 281-290.
- Lee HS. Antimicrobial properties of turmeric (*Curcuma longa* L.) rhizome-derived ar-turmerone and curcumin. *Food Science and Biotechnology*. 2006; 15: 559-563.
- Martins AP, Salgueiro L, Goncalves MJ. et al. Essential oil composition and antimicrobial activity of three Zingiberaceae from S. Tomé e Príncipe. *Planta Medica*. 2001; 67: 580-584.
- Mau J, Laib E, Wang N. et al. Composition and antioxidant activity of the essential oil from *Curcuma zedoaria*. *Food Chemistry*. 2003; 82: 583-591.
- Negi PS, Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L. et al. Antibacterial activity of turmeric oil: by product from curcumin manufacture, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999; 47: 4297-300.
- Nigam MC, Ahmed A. *Curcuma longa*: Terpenoid composition of its essential oil. *Indian Perfumer*. 1991; 3: 201-205.
- Pojanaukij N, Kajorncheappunngam S. Comparison of antimicrobial activity of Mangosteen crude, Turmeric and Gotu Kola extract, *Naresuan University Journal*. 2010; 18(1): 1-9.
- Prakosa DG, Andayani S, Maftuch. In vitro phytochemical and antibacterial activity test on temuputih extract (*Curcuma zedoaria*) against *Aeromonas hydrophila*. *International journal of scientific & technology research*, 2016; 5(2): 36-37.
- Rangsipanuratn W, Kammarnjassadakul P, Janwithayanuchit I. Antibacterial activities of ten Thai herbal extracts against *staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* ATCC 25922, *Huachiew Chalermprakiet University Journal*. 2016; 19(38): 35-48.
- Sharma RK, Misra BP, Sarma TC. et al. Essential oils of *Curcuma longa* L. from Bhutan. *Journal of Essential Oil Research*. 1997; 9: 589-592.
- Singh P, Singh S, Kapoor IPS. et al. Chemical composition and antioxidant activities of essential oil and oleoresins from *Curcuma zedoaria* rhizomes, part-74, *Food Bioscience*. 2013; 3: 42-48.
- Singh G, Singh OP, Maurya S. Chemical and biocidal investigations on essential oils of some Indian *Curcuma* species, *Progress in Crystal Growth and Characterization*. 2002; 45: 75-81.
- Soković M, Marin PD, Brkć D. et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria, *Food*. 2007; 1: 220-226.
- Srisayam M. Chantawannakul P. Antimicrobial and antioxidant properties of Thai honeys produced by *Apis mellifera* in Thailand. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*. 2010; 2(2): 77-83.
- Usman LA, Hamid AA, George OC. et al. Chemical composition of rhizome essential oil of *Curcuma longa* L. growing in North Central Nigeria, *World Journal of Chemistry*. 2009; 4: 178-181.
- Wilson B, Abraham G, Manju VS. et al. Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers, *Journal of Ethnopharmacol*. 2005; 99: 147-151.

- Zhu J, Lower-Nedza AD, Hong M. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of three essential oils from *Curcuma wenyujin*, *Natural Product Communications*. 2013; 8: 523-526.
- Zwaving JH, Bos R. Analysis of the essential oils of five *Curcuma* species, *Flavour and Fragrance Journal*. 2006; 7(1): 19-22.